

氏 名	はま 濱 崎 暁 洋
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3139 号
学位授与の日付	平 成 19 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Adult pancreatic islets require differential pax6 gene dosage (成体膵島は異なる pax6 遺伝子量を必要とする)

論文調査委員 (主 査) 教 授 松 田 道 行 教 授 野 間 昭 典 教 授 中 尾 一 和

### 論 文 内 容 の 要 旨

膵の発生、膵内分泌細胞の分化、膵島の形成には多くの転写因子が関わっている。さらに、これら転写因子は膵島内分泌細胞のホルモン合成や分泌に必要な遺伝子発現を調整し、成体膵島の機能発現において重要な役割を担っていると考えられている。転写因子 **pax** ファミリーの一つである **pax6** は眼の発生・分化のマスター遺伝子として知られるほか、膵内分泌細胞の分化に重要な役割を果たすことが報告されている。ヒトにおいても、**pax6** 遺伝子変異ヘテロ個体での眼発生異常（無虹彩症）とインスリン分泌能の低下を特徴とする耐糖能異常の合併例が報告されているが、**pax6** 遺伝子がインスリン分泌に影響を及ぼす機序は明らかにされていなかった。

本研究では成体膵島における **pax6** 遺伝子の役割を検討するために **pax6** 遺伝子変異ラット；**rSey<sup>2</sup>** (**rat small eye 2**) において、主として成体ヘテロ変異ラット (**rSey<sup>2</sup>/+**) を用いて膵島の表現型の解析を行った。ホモ変異胎仔 (**rSey<sup>2</sup>/rSey<sup>2</sup>**) 膵では膵島の形成は著しく障害され、内分泌ホルモン陽性細胞は著減していたのに対して、成体 **rSey<sup>2</sup>/+** では眼の形成異常が認められたが、膵内分泌細胞の配列、インスリン、グルカゴン含量は、野生型との間に明らかな差は認められなかった。成体 **rSey<sup>2</sup>/+** は野生型と同等の耐糖能とインスリン分泌反応を示し、また同等のインスリン感受性を有した。しかし、自由摂餌下においては随時血中インスリン値は同等であるにもかかわらず血糖値は有意に低く、潜在的なインスリン分泌亢進状態にあることが示唆された。膵灌流によるインスリン分泌能の検討では成体 **rSey<sup>2</sup>/+** 膵は野生型ラット膵と同等のブドウ糖刺激に対するインスリン分泌反応を示したが、アルギニン刺激に対するインスリン分泌反応が有意に上昇していた。単離膵島を用いたインスリン分泌能の検討では、成体 **rSey<sup>2</sup>/+** 由来膵島はアルギニンに対してのみでなく、塩化カリウム (**KCl**)、トルブタミドに対してもインスリン分泌反応が有意に高く、成体 **rSey<sup>2</sup>/+** 膵島は膜脱分極刺激に対するインスリン分泌能が亢進していることが明らかとなった。細胞内カルシウム (**Ca**) 濃度の検討では、脱分極刺激である **KCl** 刺激に対する細胞内 **Ca** 濃度上昇の程度に有意差は認められなかった。次に電気的に細胞膜に小孔を設けて任意の **ATP**、**Ca** 濃度のもとでのインスリン分泌能の評価を可能とした条件下での検討で、成体 **rSey<sup>2</sup>/+** 由来膵島は、低 **ATP** 濃度で同等 **Ca** 濃度上昇に対してのインスリン分泌能が亢進していることが明らかにされた。これらの結果から、**pax6** 遺伝子変異がインスリン分泌過程におけるインスリン分泌顆粒の開口放出機構に影響を与えることによりインスリン分泌プロファイルを変化させていることが示唆された。あわせて、一連の結果から、正常成体膵島の形態維持には一方の野生型 **pax6** アレルで十分であるが、正常インスリン分泌機構発現には両方の野生型 **pax6** アレルが必要であることが明らかとなり、成体膵島は形態維持と機能発現では異なる **pax6** 遺伝子量を要することが示された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

転写因子 **pax** ファミリーの一つである **pax6** は膵内分泌細胞の分化に重要な役割を果たし、**pax6** 遺伝子変異を有するヒトにおいてインスリン分泌能低下を特徴とする耐糖能異常が報告されている。しかし、成体膵島における **pax6** 遺伝子のイン

スリン分泌における役割は殆ど不明である。

申請者は **pax6** 遺伝子変異ラット **rSey<sup>2</sup>** (**rat small eye 2**) を用いて成体膵島における **pax6** 遺伝子変異のインスリン分泌に及ぼす影響について解明を試みた。成体 **pax6** 遺伝子ヘテロ変異ラット (**rSey<sup>2</sup>/+**) の単離膵は、ブドウ糖刺激に対して野生型ラット膵と同等のインスリン分泌反応を示す一方、アルギニン刺激に対してインスリン分泌反応が亢進していることを明らかにした。単離膵島を用いた検討においても同様に、ヘテロ変異ラット膵島の脱分極刺激に対するインスリン分泌能の亢進が認められること、この現象が細胞内 **Ca** 濃度上昇後のインスリン分泌亢進に基づくことを明らかにした。他方、膵島の細胞構築、インスリン、グルカゴン含量はヘテロ変異ラットと野生型ラットとの間に明らかな差は認められなかった。以上の結果から、成体膵島の正常な機能発現における **pax6** 遺伝子の意義が示唆された。

以上の研究は、膵島のインスリン分泌機構発現および形態維持における転写因子の役割の解明に貢献し、糖尿病学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものとみとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成 19 年 5 月 9 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。